

## 6年間の山形におけるアデノウイルス3型の分子疫学

著者	水田 克巳
号	2832
発行年	1996
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/21317">http://hdl.handle.net/10097/21317</a>

氏 名（本籍）                      <sup>みず</sup>水                      <sup>た</sup>田                      <sup>かつ</sup>克                      <sup>み</sup>巳

学 位 の 種 類                      博                      士      （ 医      学 ）

学 位 記 番 号                      医                      第      2 8 3 2      号

学位授与年月日                      平 成   8   年   3   月   8   日

学位授与の条件                      学位規則第 4 条第 2 項該当

最 終 学 歴                      昭 和 62 年 3 月 25 日  
東北大学医学部医学科卒業

学 位 論 文 題 目                      Six-Year Longitudinal Analysis of Adenovirus  
Type 3 Genome Types Isolated in Yamagata,  
Japan.  
（6年間の山形におけるアデノウイルス3型の分子疫学）

（主 査）

論 文 審 査 委 員                      教授 飯 沼 一 宇                      教授 今 野 多 助

教授 菅 村 和 夫

# 論文内容要旨

## 研究目的

1986年から1991年までの6年間に、山形市立病院済生館小児科で、急性気道感染症の患者から分離されたアデノウイルス3型に制限酵素を用いて、分子疫学的検討を加えることを目的とした。

## 方法

1986年から1991年までの6年間に山形市立病院済生館小児科を急性気道感染症として訪れた患者を対象に、咽頭拭い液から呼吸器ウイルスの分離をマイクロプレート法にて行った。分離されたアデノウイルス3型について、HEp-2細胞にて増殖後、フェノールクロロフォルム法にてDNAを抽出、エタノール沈澱により回収の後、BamH I, Hind III, Sma I, Bgl IIの各制限酵素によるDNAの切断パターンの解析をポリアクリルアミド電気泳動法により行い、6年間の分子疫学を明らかにした。

## 研究結果

### (A) ウイルス分離

1986年から1991年までの6年間に、26,992の検体から呼吸器ウイルスの分離を試み、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、RSウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、麻疹ウイルス、ムンプスウイルス、ヘルペスウイルスなどを分離した。アデノウイルスは1,015株を分離した(分離率3.8%)。うち過半数の587株(587/1,015, 57.8%)はアデノウイルス3型であり、その他はアデノウイルス1(156株, 15.4%), 2(185株, 18.2%), 4(4株, 0.4%), 5(63株, 6.2%), 6(20株, 2.0%)型であった。

アデノウイルス3型の分離状況は、6年間にわたり毎月継続して分離され、1987年と1989年の秋から冬にかけてそれぞれ大きな流行があった。

### (B) 分子疫学

587株のアデノウイルス3型分離株のうち356株について、BamH I, Hind III, Sma I, Bgl IIの4種類の制限酵素を用いて分子疫学的解析を加えた。分離株はBamH Iにより、I, IIの2種類、Hind IIIにより、A, B, Cの3種類、Sma Iにより1, 2, 3, 4の4種類、Bgl IIによりa, bの2種類に分類された。これらの電気泳動パターンの組み合わせにより、解析した356株は遺伝子型I A1a, II B1a, II B1b, II C1a, II C2a, II C3a, II C4aの7型に分類された。

7つの遺伝子型間の相違を検討するため、ヌクレオチドの相互の置換数を計算すると、7つの遺伝子型間の相違は0.1%から0.9%であった。この計算をもとに作成された7つの遺伝子型間の系統樹は、実際の遺伝子型の6年間の月別分布とよく相関していた。中でも1つの遺伝子型、II C1aは56ヶ月の長期間存続し続けたのに対し、その他の6つの型は短期間にのみ出現した。数の上でも、II C1aは全体の過半数(179/356, 50.2%)を占め優位な株であった。また、一度消失した遺伝子型が再度出現することはなかった。

1987年と1989年の流行は、いずれも流行前より存在する3つの遺伝子型が混在しておこなっていることが示された。

## 考 察

アデノウイルス3型が6年間にわたり毎月分離されたことで、このウイルスが山形に endemic なことが示唆されていたが、さらに制限酵素を用いた分子疫学的解析を加えることにより、このウイルスが山形で遺伝子的に安定して土着して存在していることが推察された。また、2-3年毎にアデノウイルス3型によっておきる流行が、他からの新たなウイルスの進入でなく土着しているウイルスによって引き起こされていることも分子疫学的解析により明らかになった。なぜ流行が2-3年おきにおこるのかという点について、1つには、抗体をもたない感受性者が2-3年おきに蓄積するためと考えられるが、実体は不明である。

方法論として、アデノウイルスの分子疫学的解析においては、これまでアガロースを用いた解析が行われてきた。しかしながら、この実験で得られた山形の7つの遺伝子型は、従来のアガロース法では3つの型の鑑別しかできなかった。このことから、ポリアクリルアミドを使用することにより、より詳細な差異の検出が可能となり、特にある一定地域での疫学的解析をする際には有用であることも示唆された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

急性呼吸器感染症は小児における罹病率および死亡率の上で重要な疾患である。2才以下の小児においては年間に約6回の罹患があるといわれている。本疾患の90%以上においてウイルスが病原と考えられており、小児急性呼吸器感染症における疫学的研究は本症の制御に重要な意味をもっている。

アデノウイルス3型は年間を通じて同定され、小児においては、秋から冬にかけて2、3年ごとに流行することが知られている。これらのことはアデノウイルス3型が小児急性呼吸器感染症における最も重要な病原体であると考えられる。本研究では山形において分離されたアデノウイルス3型の分子疫学的検討を加えこのウイルスがどのような様態をとっているかを検討した。

1986年から1991年の6年間に、山形市立病院済生館小児科で急性呼吸器感染症として訪れた患者を対象に、咽頭拭い液から呼吸器ウイルスの分離をマイクロプレート法にて行った。分離されたアデノウイルス3型について、増殖後、DNAの切断像の解析を行い、分子疫学的パターンを明らかにすることを目的とした。

26,992検体から呼吸器ウイルスの分離を試み、アデノウイルスは1,015株を分離した（分離率3.8%）。うち過半数の587株はアデノウイルス3型であった。

アデノウイルス3型は6年間にわたり毎月継続して分離され、1987年と1989年の秋から冬にかけてそれぞれ大きな流行があった。

587株のアデノウイルス3型分離株のうち346株について、BamH I、HindIII、Sma I、BgIIIの4種の制限酵素を用いて分子疫学的解析を加えた。解析した346株は遺伝子型I A1a、II B1a、II B1b、II C1a、II C2a、II C3a、II C4aの7型に分類された。7つの遺伝子型間の相違を検討するため、ヌクレオチドの相互の置換数を計算すると、7つの遺伝子型の相違は0.1%～0.9%であった。この計算をもとに作成された7つの遺伝子型間の系統樹は、実際の遺伝子型の6年間の月別分布とよく相関していた。中でも遺伝子型II C1aは56カ月の長期間存続し続けたのに対し、その他の6つの型は短期間にのみ出現した。また一度消失した遺伝子型が再出現することはなかった。

これらの結果からアデノウイルス3型は山形で遺伝的に安定し、土着して存続していることを示唆する。1987年と1989年の2つの流行についても、新たなウイルスの出現によるものではなく、土着しているウイルスに起因するものであることが示唆された。

この研究はアデノウイルス3型の分子疫学的解析により、ある一定地域でアデノウイルス3型の各型が遺伝学的に安定して土着していることを証明したものであり、医学博士の学位に値するものである。